

Claim of JP Utility Model A (Laid-open) H01-116100

An apparatus for culturing adhesive cells comprising a culture vessel in which conditions for cell growth is controlled; a culture carrier which has a shape of plate having protrusions and can bond cells; a stirring mechanism which supports a plurality of culture carriers piled up and moves the culture carrier immersed in a culture liquor relatively.

# 公開実用平成 1-116100

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 実用新案出願公開

⑫ 公開実用新案公報(U)

平1-116100

⑬ Int. Cl. \*

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成1年(1989)8月4日

C 12 M 3/00

A-8717-4B

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 頁)

⑮ 考案の名称 接着性細胞培養装置

⑯ 実 願 昭63-11905

⑰ 出 願 昭63(1988)1月28日

⑱ 考 案 者 濱 崎 勇 二

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三条工場内

⑲ 考 案 者 高 山 慎 一 郎

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三条工場内

⑳ 出 願 人 株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

㉑ 代 理 人 弁理士 野口 繁雄



## 明 細 書

### 1. 考案の名称

接着性細胞培養装置

### 2. 実用新案登録請求の範囲

(1) 細胞成育条件が制御された培養槽と、突起をもつ板状体で細胞を接着させることのできる培養担体と、複数の培養担体を重ねて支持し培養槽の培養液に浸して培養担体と培養液を相対的に動かす攪拌機構とを備えた接着性細胞培養装置。

### 3. 考案の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本考案は動物細胞のような接着性細胞を培養する装置に関するものである。

(従来技術)

接着性細胞はCO<sub>2</sub>インキュベータ(細胞培養器)内でシャーレに蒔いた細胞が一面に成育するのを待ち、酵素処理を行なって剥した後、分株し、さらにCO<sub>2</sub>インキュベータ内で培養するという操作を繰り返し、培養増殖させるのが一般的である。



連続的に培養する方法として、マイクロキャリアビーズを用い、それに細胞を接着させてマイクロキャリアビーズとともに培養液中に浮遊させて培養する方法がある。

(考案が解決しようとする問題点)

シャーレに細胞を蒔いて培養する方法では、大量に細胞を得ようとするればこまめに培養液を交換する必要があり、何度も細胞の植え替えを行なわなければならない。

また、マイクロキャリアビーズを用いる方法では、細胞をマイクロキャリアビーズに接着させること自体難しいし、細胞を接着させたマイクロキャリアビーズを攪拌するために羽根を用いるが、羽根との衝突による細胞の損傷は見過すことのできないものである。

本考案は上記の問題点を解決し、接着細胞を接着させるのが容易で、しかも大量に増殖させることが可能であり、また溶存酸素(DO)やpH、温度、培地交換も可能な接着性細胞用の培養装置を提供することを目的とするものである。





(問題点を解決するための手段)

実施例を示す第1図と第2図を参照して説明すると、本考案の接着性細胞培養装置は、細胞成育条件が制御された培養槽(2)と、突起(71)をもつ板状体で細胞を接着させることのできる培養担体(70)と、複数の培養担体(70)を重ねて支持し培養槽(2)の培養液(4)に浸して培養担体(70)と培養液(4)を相対的に動かす攪拌機構(62, 73, 74)とを備えている。

(作用)

培養担体(70)は突起(71)をもっているため、複数枚を重ねた場合でも培養担体(70)間には隙間ができる。培養担体(70)に細胞を接着させて、重ね、培養槽(2)の培養液(4)に浸すと突起(71)による隙間により培養担体(70)の表面に接着した細胞が培養液(4)と接触する。

攪拌機構(62, 73, 74)によって培養担体(70)を回転させたり、培養液(4)を動かすことによって、培養担体(70)の隙間を新し



い培養液（４）が通過し、培養が行なわれる。

（実施例）

第１図は培養担体 70 を多段に積み重ね、培養槽 2 の培養液 4 に浸した状態を表わしている。

培養担体 70 は第２図に示されるように円板状であり、表面と裏面に突起 71 が複数個形成されている。培養担体 70 の中央には孔 72 があけられ、その孔 72 には攪拌機構の軸 73 が通される。軸 73 に複数の培養担体 70 を通すことによって、第１図に示されるように培養担体 70 が多段に積み重ねられ、培養担体 70 の相互の間には培養液 4 が通過できる隙間が生じる。

培養担体 70 はセラミック、濾過膜又は樹脂など多孔質体で形成されている。培養担体 70 の直径は細胞を接着させるときシャーレに入れるのに好都合なように、例えば 8 cm 程度とし、また表面の突起 71 の先端と裏面の突起 71 の先端間の厚みを数 mm 程度とする。

培養担体 70 が軸 73 の回転とともに回転するように、孔 72 には回り止め 72 a が設けられ、



軸 7 3 にはそれに対応する回り止め 7 3 a が設けられている。

培養槽 2 の上部開口は蓋 6 によって閉じられ、軸 7 3 の上端は蓋 6 により回転可能に支持されている。蓋 6 には細胞育成条件を制御するために、溶存酸素、pH、温度などのセンサが通され、また培養液 4 の液量を一定に保つためにレベルセンサなどが通されている。これらのセンサ類は後で説明する。

軸 7 3 の下端にはポリ四フッ化エチレンなどで包み込まれた磁性金属片 7 4 が取り付けられている。一方、培養槽 2 の下方にはモータにより回転させられるマグネット 6 2 が設けられ、マグネット 6 2 の回転により磁性金属片 7 4 を介して培養担体 7 0 が回転する。培養担体 7 0 の回転により培養担体 7 0 間の隙間を培養液 4 が通過する。

培養担体 7 0 に細胞を接着させるには、第 3 図に示されるようにシャーレ 7 5 に培養担体 7 0 を置き、培養液 7 6 を入れる。そして、培養液 7 6 に接着性細胞を蒔くことによって、細胞は培養担





体 7 0 の表面に接着する。このように細胞を接着させた培養担体 7 0 を、軸 7 3 に通して第 1 図のように培養槽 2 に装着する。

次に、本実施例を用いて、培養液を連続的に交換する培養装置の例を第 4 図により説明する。

2 は培養槽、4 は培養液である。培養槽 2 の上部は蓋 6 によって密閉され、培養液 4 の上部空間で培養液 4 とガスとが接触する。

蓋 6 を経て温度センサ 8、pH センサ 10、溶存酸素濃度センサ 12 が培養液 4 に浸されており、培養液 4 の液面レベルを検出するためにレベルセンサ 14 も蓋 6 を介して取り付けられている。蓋 6 にはまた、培養液 4 の上部空間にガスを供給する供給管 16 とガスを排出する排出管 18 とが設けられている。

ガス供給管 16 には  $O_2$ 、 $CO_2$ 、及び  $N_2$  (又は空気) がそれぞれレギュレータ 22-1 ~ 22-3、電磁弁 24-1 ~ 24-3 及び逆止弁 26-1 ~ 26-3 を経て供給される。28 はフィルタ、40 は安全弁である。排出管 18 には排気



ノズル 30、逆止弁 32、オリフィス 34 及び電磁弁 36 が接続されている。38 は排気管に設けられた圧力計である。

$O_2$  を供給するための電磁弁 24-1 は、溶存酸素濃度センサ 12 の検出信号により、制御部 42 によって溶存酸素濃度が一定になるように開閉が制御される。 $CO_2$  を供給する電磁弁 24-2 は pH センサ 10 の検出信号により、制御部 42 によって pH が一定になるように開閉が制御される。 $N_2$  を供給するための電磁弁 24-3 は培養槽 2 内の  $O_2$  分圧及び  $CO_2$  分圧を調節するために用いられるものであり、pH センサ 10 と溶存酸素濃度センサ 12 の検出信号に従って制御部 42 によって開閉制御される。

培養槽 2 の下側にはヒータ 44 が設けられている。温度センサ 8 の検出信号によって、制御部 42 により、温度が一定になるようにヒータ 44 の通電が制御される。

培養液 4 はサーキュレーションポンプ 46 によって培養槽 2 とクロスフローフィルタ 48 の間を循



環させられる。クロスフローフィルタ 48 はセラミック製の円筒状フィルタであり、死細胞片等を含む培養液はフィルタ 48 の内部を通過する。培養液の一部はフィルタ 48 外に濾過されて排出される。濾過された培養液はスペントメディウムポンプ 50 によって培養装置の系外に取り出される。52 は取り出されたスペントメディウム（使用済み培地）である。培養槽 4 にはフレッシュメディウムポンプ 54 によって系外のフレッシュメディウム（新鮮培地）56 が供給される。サーキュレーションポンプ 46、スペントメディウムポンプ 50 及びフレッシュメディウムポンプ 54 は制御部 42 によって制御される。レベルセンサ 14 が培養液 4 の液面レベルを検出しており、クロスフローフィルタ 48 を経て培養液 4 が排出されると培養槽内の培養液 4 の液面レベルが下がるので、制御部 42 はレベルセンサ 14 の検出信号によってフレッシュメディウムポンプ 54 を作動させ、培養槽 2 にフレッシュメディウム 56 を供給して培養液 4 の液面レベルが一定になるように制御する。



培養液 4 中には第 1 図にも示されているように培養担体 7 0 が多段に重ねられ、回転可能に支持されて設けられている。培養槽 2 の下方にはマグネット 6 2 が設けられており、スターラモータ 6 0 を介してマグネット 6 2 を回転させることにより培養担体 7 0 を回転させることができる。スターラモータ 6 0 も制御部 4 2 によって制御される。

6 4 は制御部 4 2 の表示部であり、温度、pH、溶存酸素濃度などを表示する。6 6 は制御部 4 2 に温度などの設定値を設定する設定部である。

制御部 4 2 としては例えばマイクロコンピュータを使用することができる。

培養担体として多孔質体を用いると細胞が接着する表面を大きくすることができ、一層大量の細胞を培養することができる。

培養担体を円板状とし、中央に孔をあけたものは攪拌機構で多段に積み重ねて支持するのが容易であり、回転させるのも容易になる。

#### (考案の効果)

本考案で用いる培養担体は板状体であるので細





胞を接着させるのが容易である。

培養担体は突起をもっているので、多段に積み重ねた場合も隙間ができ、その隙間を培養液が移動するので、培養液の交換が容易である。そしてこのように培養担体を多段に積み重ねることができるので、大量の細胞を培養することができる。静置培養に比べると細胞の植え替えの手数を省くことができ、マイクロキャリアビーズを用いる方法に比べると操作が容易で細胞の損傷も少ない。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は一実施例を示す断面図、第2図は1枚の培養担体を示す斜視図、第3図は培養担体に細胞を植えつける方法を示す斜視図、第4図は一実施例を用いた連続細胞培養装置を示す構成図である。

2 …… 培養槽、

4 …… 培養液、

8 …… 温度センサ、

10 …… pHセンサ、

12 …… 溶存酸素濃度センサ、





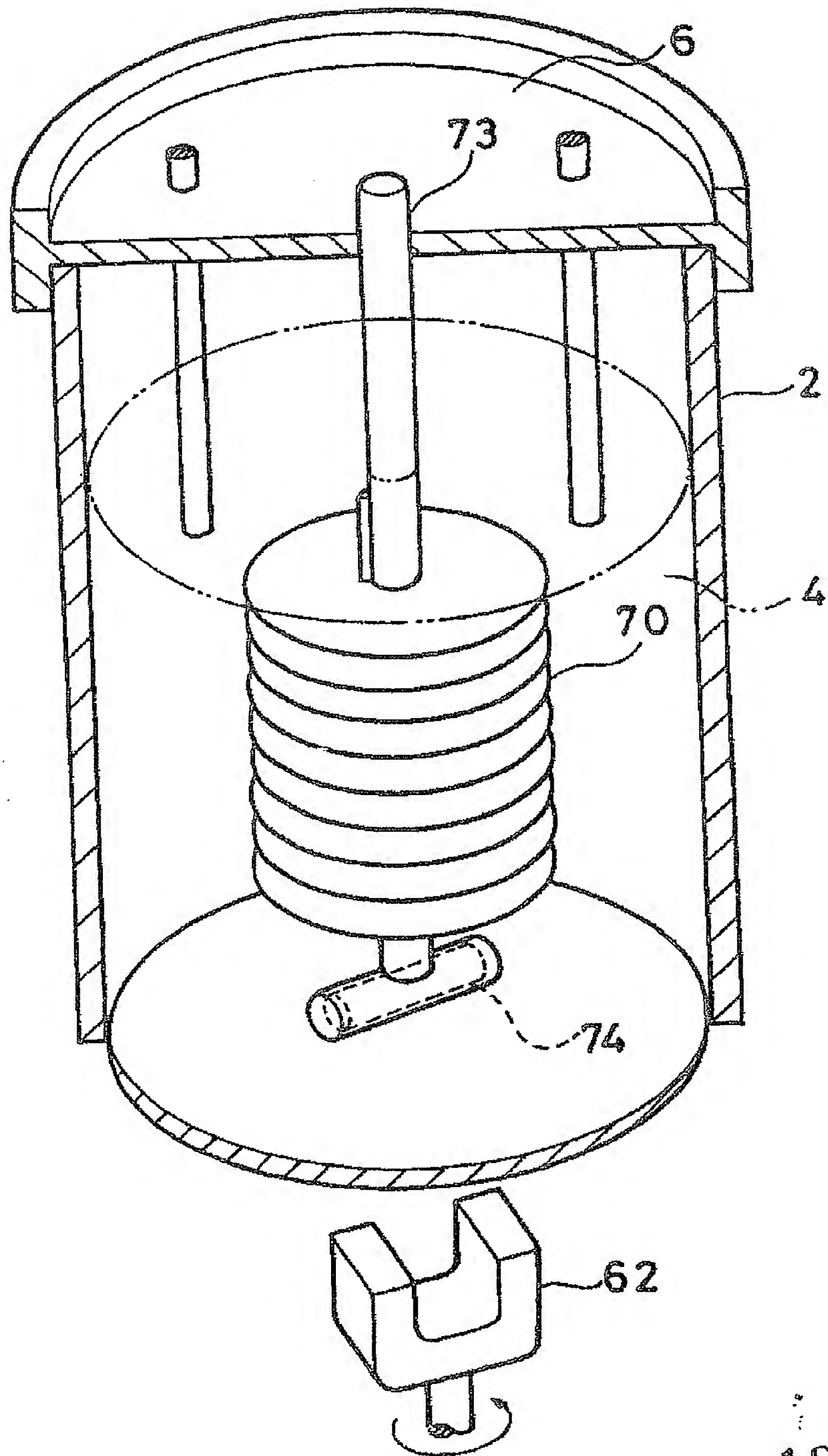
- 1 4 …… レベルセンサ、
- 1 6 …… ガス供給管、
- 1 8 …… ガス排出管、
- 6 2 …… マグネット、
- 7 0 …… 培養担体、
- 7 1 …… 突起、
- 7 3 …… 軸、
- 7 4 …… 磁性金属片。

実用新案登録出願人 株式会社島津製作所

代理人 弁理士 野口繁雄

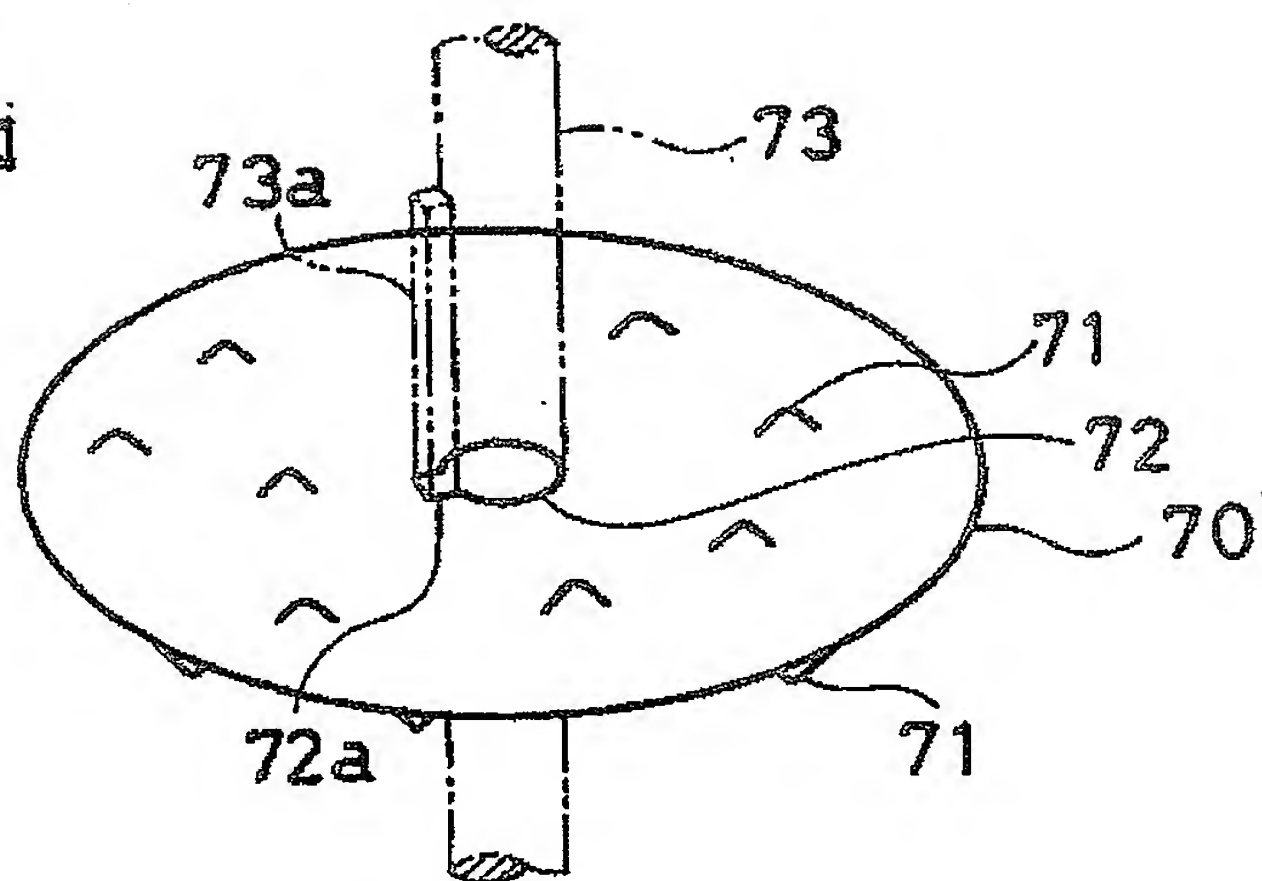
1208

第 1 図

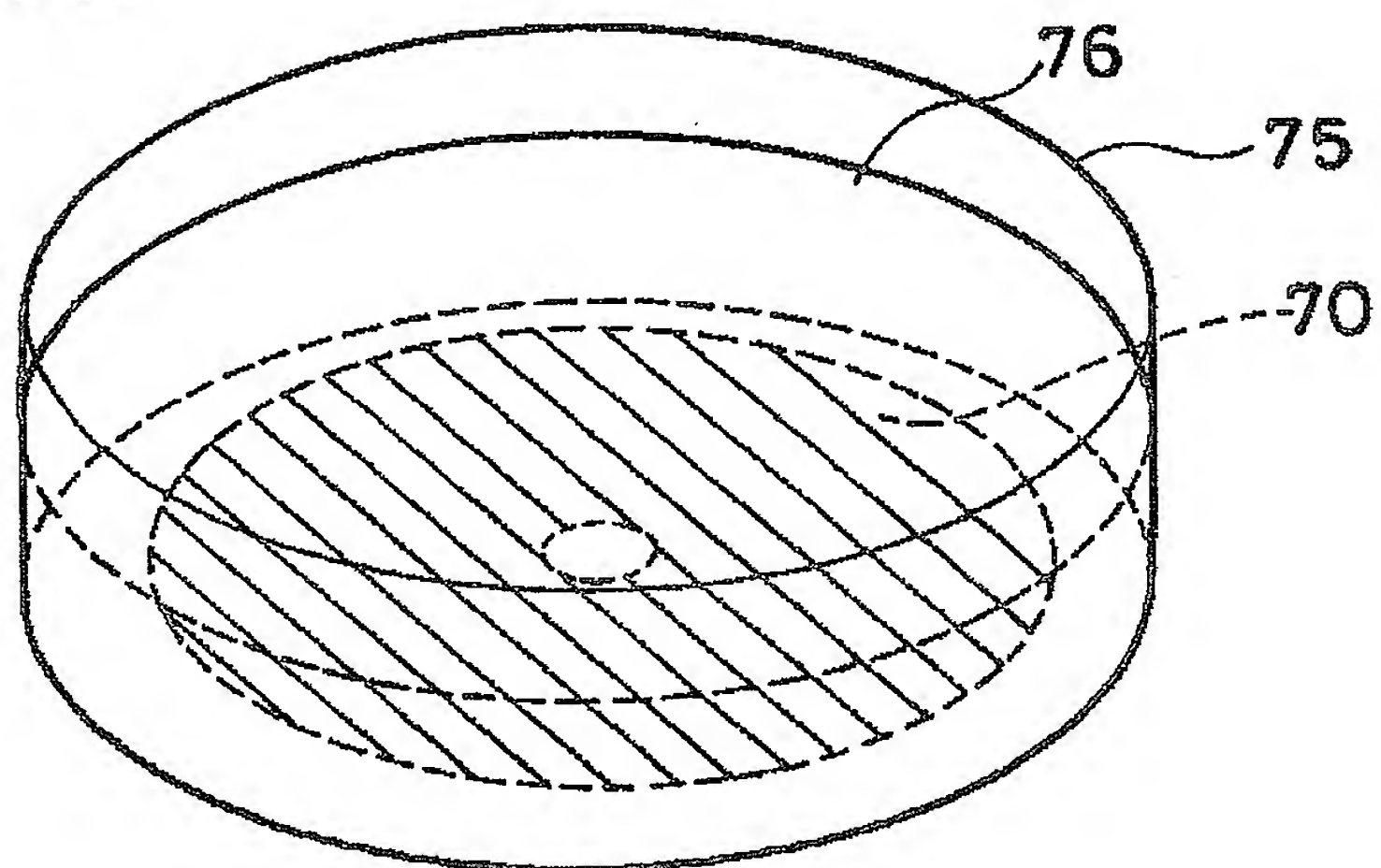


1209

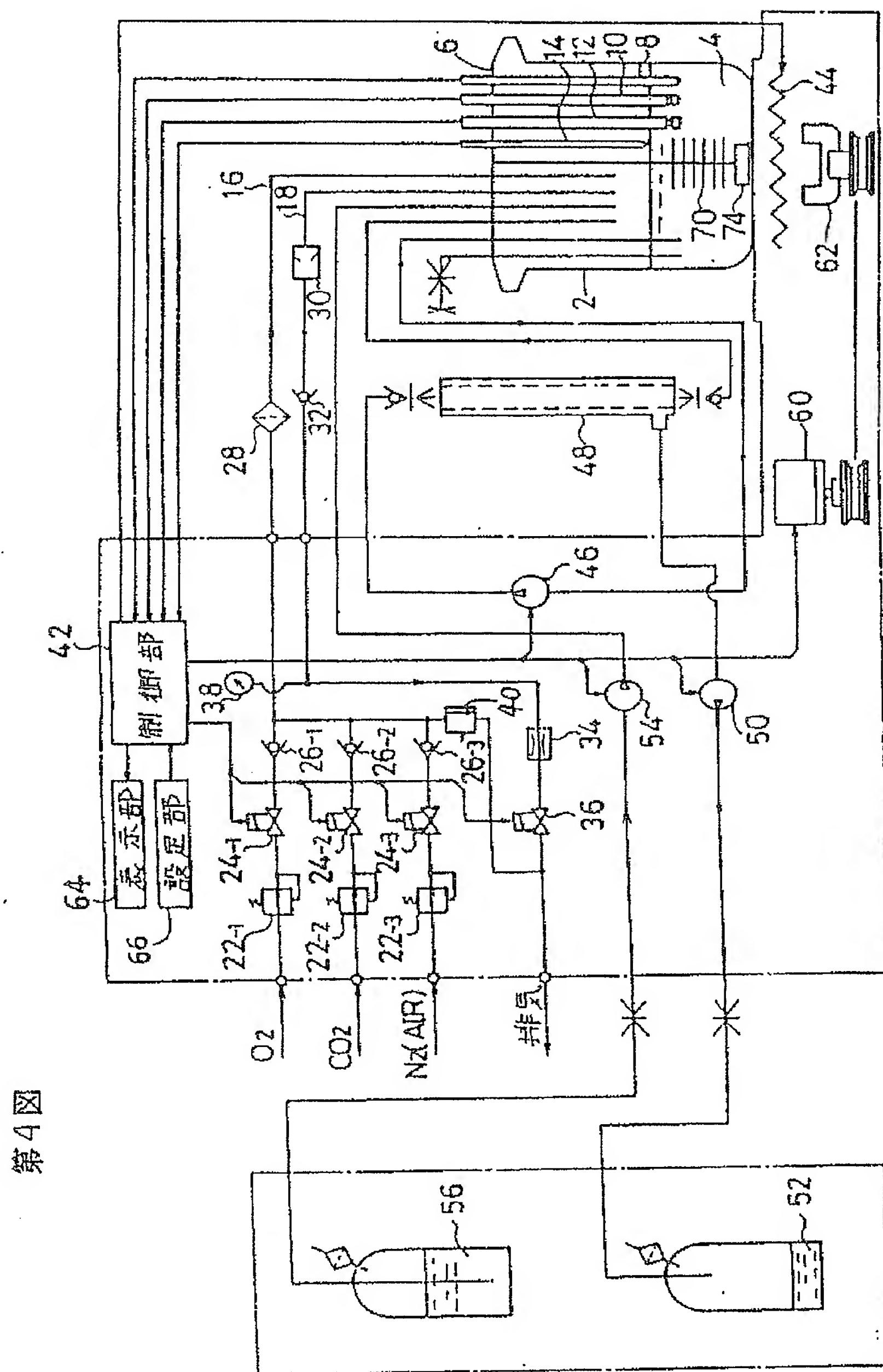
第 2 図



第 3 図



1210



1211

案開1-116100

実用新案登録出願人 株式会社島津製作所

野口繁雄